WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

A61K 39/00, 39/385

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 97/26910

A2

DE

DE

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

PT. SE).

31. Juli 1997 (31.07.97)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE97/00172

(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)

(30) Prioritätsdaten:

196 02 985.6 196 04 380.8 27. Januar 1996 (27.01.96)

7. Februar 1996 (07.02.96)

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT. LU, MC. NL.

(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE,

DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN

[DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE], Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz: BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rossle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS

(54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

(57) Abstract

The invention concerns a turnour vaccine in which the immunogenicity of turnour cells, turnour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatis.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungam	NZ	Neusceland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL.	Polen
BG	Bulgarien	lT	Italien	PT	Portugai
BJ	Benin	JP	Јарал	RO	Rumānien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CC	Kongo	KZ	Kasachstan	Si	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
C3	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	υG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von malignen Tumoren

Beschreibung

15

25

35

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Impfstoffes aus gentechnisch modifizierten Tumorzellen beziehungsweise aus biochemisch isolierten tumorassoziierten Antigenen oder synthetisch hergestellten antigenen Teilstrukturen für die Immuntherapie von malignen Tumoren. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Die grundlegende Therapie solider maligner Tumoren ist die chirurgische oder strahlentherapeutische Entfernung des Primärtumors. Bei systemischen Formen der Krebserkrankung oder chirurgisch nicht erreichbaren Tumormetastasen führt man eine Chemotherapie durch oder versucht eine biologische Therapie. Theoretisch gesehen ist die Erzeugung einer gegen Krebszellen gerichteten Immunantwort, die zur Zerstörung der Krebszellen führt, das gesunde Gewebe aber nicht behelligt, die optimale Methode, um Tumormetastasen zu bekämpfen. Daß es prinzipiell möglich ist, eine gegen Krebszellen gerichtete Immunantwort zu erzeugen, wird durch Ergebnisse von Impfversuchen mit tierexperimentellen Tumoren sowie auch mit einigen Tumoren des Menschen belegt.

Es sind jedoch noch Hemmnisse zu überwinden, ehe diese Form der aktiven spezifischen Immunisierung zur Therapie von Krebserkrankungen eine breitere klinische Anwendung finden kann. Eines der größten Hemmnisse ist die geringe Immunogenität spontan entstandener Tumoren. Unstrittig ist, daß die meisten Tumoren, auch diejenigen des Menschen, tumorassoziierte Antigene besitzen, durch die sie sich vom gesunden Gewebe unterscheiden. Da Tumoren jedoch körpereigenes Gewebe darstellen, registriert das Immunsystem lediglich die Existenz tumorassoziierter Antigene auf den malignen Zellen, ist aber von sich aus nicht in

der Lage, eine wirksame Abwehrreaktion gegen die nativen Tumorzellen zustandezubringen.

Um eine wirksame immunologische Abwehrreaktion gegen maligne Tumoren hervorzurufen, ist es unerläßlich, die Immunogenität derjenigen Tumorzellen oder tumorassozijerten Antigene mit denen man eine Impfung vornehmen will, künstlich zu verstärken. Bei Tumorzellimpfstoffen kann dieses dadurch geschehen, daß man die Tumorzellen chemisch, enzymatisch oder durch Hinzufügen apathogener Vi-10 ren bzw. abgeschwächter Tuberkelbakterien (BCG) äußerlich modifiziert oder gentechnisch durch Übertragung z.B. eines Zytokingens verändert (Specific Immunotherapy of Cancer with Vaccines, eds. Bystryn et al., Ann NY Acad Sci 15 690 (1993); Pardoll, Curr Opin Immunol 4, (1992)). Subzelluläre, lösliche tumorassoziierte Antigene, z.B. Proteine oder Peptide mit entsprechenden immundominanten Epitopen aus Melanomzellen (van der Bruggen et al., Science 254, 1643-1647 (1991), Adenokarzinomen 20 (Taylor-Papadimitriou et al., Ann NY Acad Sci 690, 69-79 (1993)) oder anderen Tumoren (Slingluff et al., Curr Opin Immunol 6, 733-740 (1994)) müssen an ein immunogenes Trägermolekül gebunden werden, um ihre schwache Immunogenität zu verstärken bzw. sie überhaupt immunogen zu machen. 25 Peptide ohne Trägermolekül wirken in der Regel lediglich als Hapten, d.h. sie reagieren zwar mit einem entsprechenden peptidspezifischen Antikörper, können aber selbst keine Immunantwort hervorrufen. Als Trägermolekül werden bestimmte Serumproteine oder bakterielle Toxoide verwen-30 det. Vor der Impfung wird dem Konjugat aus Peptid und Trägermolekül üblicherweise ein Adjuvans zugefügt, wodurch die Immunantwort nochmals verstärkt wird.

Prinzipiell wird die Immunantwort erkennbar an Hand der Bildung antigenspezifischer Antikörper und/oder T-Lymphozyten. Wie Ergebnisse von tierexperimentellen Untersuchungen und in-vitro-Tests mit humanen Tumorzellen zeigen, kommt es bei der Erzeugung einer therapeutisch

wirksamen Immunantwort gegen Krebszellen in erster Linie auf eine durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität an und weniger auf die Bildung von Antikörpern (Hellström and Hellström, Ann NY Acad Sci 690, 24-33 (1993)). Allerdings existieren bisher keine klaren Vorstellungen darüber, wie man bei einer Impfung von Tumorpatienten mit tumorassoziierten Antigenen oder kurzkettigen Peptiden verfahren muß, um vor allem die Bildung tumorantigenspezifischer T-Lymphozyten hervorzurufen (Time of Truth for Cancer Vaccines, J Natl Cancer Inst 86, 330-331 (1994)).

Das Ziel der vorliegenden Erfindung war es deshalb, einen Tumorimpfstoff bereitzustellen, der es gestattet, sowohl Tumorzellen als auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen für eine wirksame Abwehrreaktion gegen native Tumorzellen einzusetzen. Die Aufgabe der Erfindung bestand dabei darin, die Immunogenität von als Impfstoff verwendeten Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung der Tumorzellen beziehungsweise durch biochemische Modifizierung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam zu verstärken und dabei insbesondere die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

25

30

35

10

15

20

Überraschend konnte diese Aufgabe durch gentechnische Modifizierung von Tumorzellen, die erfindungsgemäß zusätzlich das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten oder durch Bindung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gelöst werden.

Der erfindungsgemäße Tumorimpfstoff enthält Tumorzellen, die das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten beziehungsweise tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen, die an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

Bevorzugt wird ein mikrobielles Hitzeschockprotein beziehungsweise sein Gen verwendet. Besonders bevorzugt sind
das Gen von Hitzeschockproteinen beziehungsweise Hitzeschockproteine aus Mycobakterien, Escherichia coli und
aus Chlamydia trachomatis, insbesondere sind es die Hitzeschockproteine HSP65 und HSP70 aus Mycobakterien, HSP70
aus Escherichia coli (DnaK) sowie HSP60 und HSP70 aus
Chlamydia trachomatis.

- Zur Herstellung des Tumorimpfstoffes eignen sich autologe Tumorzellen, die mit Hilfe mechanischer oder enzymatischer Methoden aus chirurgisch entferntem Tumorgewebe isoliert werden. Tumorzellinien, die von allogenen Tumoren gleicher Histologie stammen, können ebenfalls verwendet werden, ein Beispiel dafür sind Zellen einer Colonkarzinomlinie, wie z.B. die Linien LS174T oder LOVO. Der Impfstoff wird postoperativ verabfolgt, vor der Applikation werden die Tumorzellen durch radioaktive Bestrahlung devitalisiert.
- Infolge der Bereitstellung dieses erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffes durch Einschleusen des Gens eines exogenen
 Hitzeschockproteins und dessen Expression werden die Tumorzellen nachhaltig verfremdet und damit stärker immunogen. Das Gen des Hitzeschockproteins wird z.B. in den
 Vektor pcDNA3 (Invitrogen Corp.) insertiert. Die Einschleusung und Expression des Gens eines Hitzeschockproteins erfolgt nach an sich bekannten Methoden, wie z.B.
 durch Transfektion mit dem liposomalen Reagenz DOTAP
 (Boehringer Mannheim GmbH) nach Felgner et al. Proc Natl
 Acad Sci USA 84 (1987), 7413-7417, Li et al. Biochemica,
 30-31 (1995).

Danach können Tumorimpfstoffe für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom hergestellt werden.

Gemäß der Erfindung werden auch biochemisch isolierte tumorassoziierte Antigene und synthetisch hergestellte an-

tigene Teilstrukturen verwendet. Ein tumorassoziiertes Antigen ist beispielsweise das Carcinoembryonale Antigen. Als synthetisch hergestellte antigene Teilstrukturen werden gemäß der Erfindung synthetisch hergestellte Mucinpeptide, insbesondere Monomere und Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 eingesetzt.

Der Tumorimpfstoff wird nach an sich üblichen Methoden unter sterilen Kautelen hergestellt, in dem das Hitzeschockprotein chemisch an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

10

Mit dem erfindungsgemäßen Tumorimpfstoff wird eine neuartige Strategie verfolgt. Durch die gentechnische Modifizierung von Tumorzellen mit dem Gen eines Hitzeschockproteins beziehungseise durch die Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein wird überraschend die Immunogenität von Tumorzellen und von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam verstärkt, d.h. es wird dadurch erstmalig möglich, auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen gezielt einzusetzen und dadurch die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

Die erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffe werden für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom oder malignem Melanom verwendet und vorzugsweise postoperativ verabfolgt.

Patentansprüche

1. Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von Tumoren enthaltend Tumorzellen, tumorassoziierte Antigene oder
antigene Teilstrukturen, wobei die Tumorzellen das
Gen eines exogenen Hitzschockproteins enthalten, und
die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

10

5

2. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Tumorzellen devitalisierte autologe oder allogene Tumorzellen eingesetzt werden.

15

20

25

- 3. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen biochemisch isoliert oder synthetisch hergestellt werden.
- 4. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen synthetisch hergestellte Mucinpeptide verwendet werden.
- 5. Tumorimpfstoff nach Anspruch 4,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 synthetisch hergestellte Monomere oder Oligomere der
 Mucinpeptide MUC1 und MUC2 verwendet werden.
- 6. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 als tumorassoziiertes Antigen oder antigene Teilstrukturen Carcinoembryonales Antigen oder antigene
 Teilstrukturen des Carcinoembryonalen Antigens verwendet werden.

5

10

25

30

- 7. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das exogene Hitzeschockprotein ein mikrobielles Hitzeschockprotein ist.
- 8. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP65 aus Mycobakterien ist.
- Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Mycobak terien ist.
- 10. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Escherichia coli (DnaK) ist.
 - 11. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP60 aus Chlamydia trachomatis ist.
 - 12. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Chlamydia trachomatis ist.
 - 13. Verwendung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom.

14. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1,2 und 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man in Tumorzellen die cDNA des Gens eines Hitzeschockproteins einschleust und dort, zur Expression bringt.

15. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffs für die Immuntherapie nach den Ansprüchen 1 und 3 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzschockprotein an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 97/26910

A61K 39/00, 39/385

A3

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

31. Juli 1997 (31.07.97)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE97/00172

(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)

(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,

PT, SE).

(30) Prioritätsdaten:

196 02 985.6 196 04 380.8

27. Januar 1996 (27.01.96) 7. Februar 1996 (07.02.96)

DE

DE

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls

Änderungen eintreffen.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN

[DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).
- (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH. Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 2. Oktober 1997 (02.10.97)

(54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS

(54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

(57) Abstract

The invention concerns a turnour vaccine in which the immunogenicity of turnour cells, turnour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatic

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko	
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger	
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande	
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen	
BE	Belgien	HU	Ungam	NZ	Neuseeland	
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen	
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal	
ta	Benin	JP	Japan	RO	Rumānien	
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation	
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan	
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden	
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur	
CG	Kongo	ΚZ	Kasachstan	SI	Slowenien	
СН	Schweiz	Li	Liechtenstein	SK	Slowakei	
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal	
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland	
- CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad	
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo	
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan	
DE	Deutschland -	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago	
DK	Dänemark	MÐ	Republik Moldau	UA	Ukraine	
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda	
es	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika	
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan	
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam	
GA	Gabon	MW	Malawi			

Intern: al Application No PCT/DE 97/00172

			.,
A. CLASS	A61K39/00 A61K39/385		
According	to International Patent Classification (IPC) or to both national class	sification and IPC	
B. FIELDS	SSEARCHED		
IPC 6	documentation searched (classification system followed by classification and control of the system followed by classification system followed	ation symbols)	
Documenta	tion searched other than minimum documentation to the extent tha	t such documents are included in the fields	searched
Electronic	lata base consulted during the international search (name of data b	ase and, where practical, search terms used	1)
C. DOCUM	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the	relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNC ;COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LO DOUGLAS () 26 May 1994 see page 1, line 28 - page 12, l	WRIE	1
х	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, January 1996, CAMBRIDGE pages 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS: APPLICATIONS IN HEALTH DISEASE" see the whole document	GB,	1
		-/	·
X Furd	her documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family members are listed	in annex.
'A' docume consider in filing of the which creation other in produced the consideration of th	ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another n or other special reason (as specified) ent referring to an oral disclosure, use, exhibition or	T later document published after the in or priority date and not in conflict worted to understand the principle or invention "X" document of particular relevance; the cannot be considered novel or cannot involve an inventive step when the document of particular relevance; the cannot be considered to involve an indocument is combined with one or ments, such combination being obvious the art. "&" document member of the same patern Date of mailing of the international s	with the application but theory underlying the e claimed invention to considered to focument is taken alone e claimed invention nventive step when the more other such docu- ous to a person skilled
	2 August 1997	2 5. 08. 97	
Name and m	nailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Authorized officer Rempp. G	

Intern al Application No PCT/DE 97/00172

		PCT/DE 97/00172			
	(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
alegory *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.			
X	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY,	1			
• •	vol. 14, November 1993,				
	pages 352-356, XP002037576				
	NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK	į			
	PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER"	ł			
	see the whole document	•			
	see the whole document				
X	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY,	1			
	vol. 6, December 1995,	-			
	pages 349-355, XP002037577				
	NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK				
	PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED				
	THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN				
	TUMORS"				
	see the whole document	1			
X	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY,	1			
	vol. 6, 1994, LONDON GB,				
	pages 728-732, XP002037578				
	PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK				
	PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER	·			
	IMMUNOTHERAPY"				
	see the whole document				
, p	INSECTION AND INMINITY				
(,P	INFECTION AND IMMUNITY,	1			
	vol. 64, no. 7, July 1996, WASHINGTON US,				
	pages 2400-2407, XP002037579				
	CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION	·			
	OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF				
	PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS				
	IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS				
	EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65"				
	see the whole document				
X,P	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY.	1			
Λ, Г	vol. 60, August 1996,	1			
	pages 153-158, XP002037580				
	MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK				
	PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN				
	VACCINES"				
	see the whole document				
	•••				
(,P	EUR. J. IMMUNOL.,	1			
	vol. 26, November 1996,				
	pages 2559-2564, XP002037581				
	TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS				
	EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL				
	CANCER VACCINES"				
	see the whole document				
	· .				
		1			

International application No.

PCT/DE 97/00172

Box I	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)	
This inte	ernational search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	_
1. X	Claims Nos.: 13 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
	Remark: Although claim 13 relates to a method for treatment of the human or animal body, he search was carried out, based on the alleged effects of the compound or composition.	
2.	Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3.	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Вох Ц	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	1
This Inte	ernational Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
1.	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.	
2.	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.	-
3.	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4.	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:	
Remark	on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.	
	No protest accompanied the payment of additional search fees.	

information on patent family members

Interna d Application No
PCT/DE 97/00172

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A CA 2149309 A EP 0670899 A JP 8503132 T	08-06-94 26-05-94 13-09-95 09-04-96

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

			CI/DE 9//001/2	
A. KLASS IPK 6	A61K39/00 A61K39/385			
Nach der li	nternationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen	Klassifikation und der IPK		
B. RECH	ERCHIERTE GEBIETE			
Recherchies IPK 6	rter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssyr A61K	nbole)		
Retherchie	rte aber richt zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen,	sowert diese unter die recher	chierten Gebiete fallen	·····
Während d	er internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank	(Name der Datenbank und e	vil. verwendete Suchbegnife)	
C. ALS W	ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN			
Kategone*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Ang	abe der in Betracht kommend	len Teile Betr. Anspruch Nr	Γ.
Х	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNC ;COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LO DOUGLAS () 26.Mai 1994 siehe Seite 1, Zeile 28 - Seite)WRIE	1	
		12, 20116		
X	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Bd. 14, Januar 1996, CAMBRIDGE Seiten 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEALTH DISEASE" siehe das ganze Dokument	·		
	-	-/		
X Weiu	ere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu hinsen	X Siehe Anhang Pate	ntamile	
Besondere 'A' Veröffe aber nı 'E' älteres I Antmelle scheine anderer soll ode ausgefü 'O' Veröffer enne Be 'P' Veröffer	Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen: Intlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, cht als besonders bedeutsam anzusehen ist Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen ledanum veröffentlicht worden ist Intlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft er- ni zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer in im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden ir die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie hrt) Intlichung, die zich auf eine mündliche Offenbarung, mitchung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht attlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach	T' Spätere Veröffendichung oder dem Prioritätsdam Ammeldung nicht kollidi Erfindung zugrundeliege Theorie angegeben ist 'X' Veröffentlichung von bes kann allein aufgrund die erfindenischer Tängkeit 'Y' Veröffentlichung von besann nicht als auf erfind werden, wenn die Veröffentlichungen diese Verbindung für eit	die nach dem internationalen Anmelden weröffentlicht worden ist und mit der ert, sondern nur zum Verständins des der inden Prinzips oder der ihr zugrundeliege sonderer Bedeutung; die beansprüchte Erser Veröffentlichung nicht als neu oder aberühend betrachtet werden tonderer Bedeutung; die beansprüchte Erseicher Tätigkeit berühend betrachtet eindichung mit einer oder mehreren ander Kategorie in Verbindung gebracht wirden Fachmann naheliegend ist	enden findung luf findung
	anspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist bschlusses der internationalen Recherche		tglied derselben Patentfamilie ist	
	.August 1997	2 5. 08. 97	nationalen Recherchenberichts	
Name und Pe	ostanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL 2280 HV Rijswijk	Bevollmächtigter Bedien	teter	
	Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nt, Fax: (+31-70) 340-3016	Rempp, G		İ

. 2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interr. sales Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN				
ategone*	Bezeichnung der Veröffendichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.		
(JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Bd. 14, November 1993, Seiten 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" siehe das ganze Dokument	1		
	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, Bd. 6, Dezember 1995, Seiten 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS"	1		
	siehe das ganze Dokument			
X	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, Bd. 6, 1994, LONDON GB, Seiten 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" siehe das ganze Dokument	1		
Х,Р	INFECTION AND IMMUNITY, Bd. 64, Nr. 7, Juli 1996, WASHINGTON US, Seiten 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" siehe das ganze Dokument	1		
Х,Р	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, Bd. 60, August 1996, Seiten 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" siehe das ganze Dokument	1		
X,P	EUR. J. IMMUNOL., Bd. 26, November 1996, Seiten 2559-2564, XP002037581 TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" siehe das ganze Dokument	1		
-				

.rnationales Aktenzeichen

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

PCT/DE 97/00172

Feld 1 Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt
1. X Ansprüche Nr. 13 weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 13 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durch- geführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/ Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält
Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Anspruche der internationalen Anmeldung.
Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusatzliche Recherchengebühr gerechtferugt hätte, hat die Internationale Recherchenbehorde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwahnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Verossentlichungen, die zur seiben Patentsamilie gehoren

Interns des Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der	Mitglied(er) der	Datum der
	Veröffendichung	Patentfamilie	Veröffendichung
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A CA 2149309 A EP 0670899 A JP 8503132 T	08-06-94 26-05-94 13-09-95 09-04-96